

Deformable, hardenable or film-forming carrier containing intraoral diagnostic additives, useful for the simultaneous detection of multiple oral conditions

Also published as:

WO01122237 (A1)

EP1191946 (A1)

AU7695583 (B2)

Patent number: DE19926728

Publication date: 2000-12-14

Inventor: GASSER OSWALD (DE); GUGGENBERGER RAINER (DE); GANGNUIS BERND (DE); HAEBERLEIN INGO (DE)

Applicant: ESPE DENTAL AG (DE)

Classification:

- **international:** A61K6/10; A61K49/00; C12Q1/04; A61K6/10;

A61K49/00; C12Q1/04; (IPC1-7): A61K6/00; A61K6/10;

A61K49/00; G01N33/569

- **european:** A61K6/10; A61K49/00P4F; A61K49/00P8; C12Q1/04

Application number: DE19991026728 19990611

Priority number(s): DE19991026728 19990611

[Report a data error here](#)

Abstract of DE19926728

A deformable, hardenable or film-forming carrier material contains additives (I) for use in location and material-specific intraoral diagnosis, is new. Independent claim are also included for the following: (1) the preparation of the product, by incorporating (I) in the carrier material; and (2) intraoral diagnostic imaging methods using the product.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



⑫ Offenlegungsschrift
⑩ DE 199 26 728 A 1

⑮ Int. Cl.⁷:
A 61 K 6/00
A 61 K 6/10
A 61 K 49/00
G 01 N 33/569

- ⑯ Anmelder:
ESPE Dental AG, 82229 Seefeld, DE
- ⑭ Vertreter:
Abitz & Partner, 81679 München

⑯ Aktenzeichen: 199 26 728.6
⑯ Anmeldetag: 11. 6. 1999
⑯ Offenlegungstag: 14. 12. 2000

- ⑰ Erfinder:
Gasser, Oswald, Dr., 82229 Seefeld, DE;
Guggenberger, Rainer, Dr., 82211 Herrsching, DE;
Gangnus, Bernd, Dr., 82346 Andechs, DE;
Häberlein, Ingo, Dr., 82362 Weilheim, DE
- ⑯ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
zu ziehende Druckschriften:
- | | |
|----|---------------|
| DE | 39 39 998 C2 |
| DE | 37 43 983 C2 |
| DE | 198 27 417 A1 |
| DE | 197 14 167 A1 |
| US | 49 76 951 |
| US | 44 59 277 |
| US | 43 02 439 |
- Derwent Abstracts:
Ref. 1998-172444/16 zu JP 10033576 A;
Ref. 1992-403005/49 zu JP 04299998 A;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

- ⑯ Trägermaterialien und Abbildungsverfahren für intraorale Diagnosezwecke
- ⑯ Die Erfindung betrifft verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, welche diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe für die orts- und stoffspezifische intraorale Diagnostik enthalten, sowie Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale ort- und stoffspezifische Diagnosezwecke, bei welchen diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer solchen Menge aufgebracht werden, daß ein diagnostisches Signal wahrgenommen werden kann.

Beschreibung

Die Erfindung betrifft verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien für die intraorale Diagnostik, welche diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe enthalten. Ferner betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke sowie Verfahren für die multiple sowie orts- und stoffspezifische Befunderhebung unter Verwendung der diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthaltenden härtbaren oder filmbildenden Trägermaterialien. Derartige Zusatzstoffe ermöglichen dem Fachmann die Herstellung von Abbildungen für den intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen.

Insbesondere betrifft die Erfindung dentale Abformmaterialien für die intraorale Diagnostik, welche diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe enthalten, sowie ein Verfahren zum Aufbringen diagnostisch nutzbarer Zusatzstoffe auf ausgehärtete Abformmassen, wobei die diagnostisch wirksamen Zusatzstoffe zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozessen hinweisen, geeignet sind.

Ebenso betrifft die Erfindung verformbare oder härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, insbesondere dentale Abformmaterialien, die intraorale Stoffe ortsspezifisch aufnehmen können, wobei diese aufgenommenen intraoralen Stoffe es dem Fachmann erlauben, durch Aufbringen diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe auf die Trägermaterialien Testverfahren durchzuführen, die zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis pathogener Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder die zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozessen hinweisen, geeignet sind.

Der orts- und stoffspezifische Nachweis von Substanzen im Mundmilieu ist ein seit langem bearbeitetes Problem. Dem Fachmann sind Single-Site-Tests bekannt (z. B. EP-A-0 304 871), die alle darauf beruhen, daß von definierten Punkten im Mundraum, beispielsweise Zahnfleischtaschen, Zahnoberflächen oder Zahnwurzelkanälen einzelne Proben genommen werden. Die anschließende Analyse dieser Proben erfolgt je nach Fragestellung mit den unterschiedlichsten Methoden, wobei vier generelle Ansätze zu unterscheiden sind:

1. Die mikrobiologische Befunderhebung erfolgt häufig nach mehrtägiger Bebrütung der Proben in geeigneten Kulturmiedien, weil die ursprünglich vorhandene Zahl von Mikroorganismen für eine direkte Befunderhebung nicht ausreichend ist. Nach Vermehrung der Mikroorganismen werden die Colony-Forming-Units (CFU) gezählt und auf die in der Probe befindlichen Zahl von Mikroorganismen geschlossen (Kneist, S.; Klein, C.; Rupf, S.; Eschrich, K. Quintessenz (1999) 50, 33-43). In diesen Testsystemen können sich die in der Probe befindlichen vitalen Mikroorganismen unter optimalen Bedingungen vermehren. Das Untersuchungsergebnis zeigt damit das maximal mögliche pathogene Potential des evaluierten Mikroorganismus an, wenn sich der durch definierte Kulturmiedien selektiv angezogene Mikroorganismus im Mundraum ähnlich ungehindert vermehren könnte.

Bekanntlich liegen im Mundraum aber eben gerade

5

nicht derartig optimale Wachstumsbedingungen vor, so daß das Testergebnis nur bedingt aussagekräftig ist. Darüber hinaus darf nicht übersehen werden, daß durch die Bebrütung der Proben eine Kultur pathogener Mikroorganismen angelegt wird, die mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zur Risikominimierung in der Praxis behandelt werden müssen. Eine besondere Entsorgung ist erforderlich. Neben diesen Nachteilen sind die Bebrütungsverfahren zur mikrobiologischen Befunderhebung teuer und sehr zeitaufwendig.

2. Immunologische Methoden sind ein weiterer genereller Ansatz zur mikrobiologischen Befunderhebung in Single-Site-Tests. Hierbei werden monoklonale oder polyklonale Antikörper gegen Oberflächenstrukturen oder sezernierte Substanzen von Mikroorganismen eingesetzt. Darüber hinaus können mit entsprechenden Antikörpern beispielsweise auch Entzündungsvorgänge verfolgt werden. Beispielhaft sind hierfür WO-94/12 877, US-5 665 559, WO-96/07 103, WO-96/32 647 zu nennen.

Die immunologischen Methoden gemäß Absatz 2 sind im Vergleich zu den Bebrütungsverfahren gemäß Absatz 1 spezifischer, schneller und preisgünstiger, haben aber deutliche Schwächen in der Reproduzierbarkeit, die unter anderem durch die Probennahme bedingt werden. Beispielsweise befinden sich in einem Plaquebereich nicht nur vitale, sondern auch erhebliche Mengen abgestorbener Mikroorganismen. Je nach Probennahme kann das Verhältnis zwischen toten und vitalen Mikroorganismen unterschiedlich sein. Da die Antikörper nicht zwischen vitalen und toten Mikroorganismen unterscheiden können, ergibt sich eine unvorhersehbare Schwankungsbreite in der Ableitung des vorhandenen pathogenen Potentials der evaluierten Mikroorganismen (Aass, A. M.; Preus, H. R., Zambon, J. J., Gjermo, P. Scand J. Dent Res (1994) 102, 355-360).

3. Die Methode mit der höchsten Sensitivität beruht auf der Poly-Chain-Reaction-Technologie (PCR). Geringste Mengen Mikroorganismen können mit hoher Spezifität nachgewiesen werden. Allerdings ist die PCR-Technologie zeitaufwendig, komplex, kostenintensiv und in der Beherrschung nicht trivial (Rupf, S.; Kneist, S.; Merte, K.; Eschrich, K. Eur. J. Oral. Sci (1999) 107, 75-81).

4. Es wurden ferner einige Methoden beschrieben, die biochemische Marker nutzen, um Munderkrankungen zu diagnostizieren. Eine Übersicht bietet der Beitrag von (J. Meyle, Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift (1999) 54, 73-77). Die Aussagekraft der einzelnen biochemischen Marker muß differenziert unter Berücksichtigung der klinischen Studien bewertet werden und bleibt dem Fachmann vorbehalten. Hervorzuheben ist, daß die Bestimmung der biochemischen Marker mittels Single-Site-Methoden erfolgt. Beispielhaft wird auf die Patentschrift WO-98/21 583 hingewiesen. Die hier benötigten Hilfswerzeuge zeichnen sich dadurch aus, daß sie die zu untersuchenden Proben binden (WO-91/14 000, EP-A-0 304 871, US-A-5 725 373). Für jede Probenstelle muß jeweils ein Hilfswerzeug eingesetzt und individuell analysiert werden.

Prinzipiell haben alle aus dem Stand der Technik bekannten Single-Site-Methoden den entscheidenden Nachteil, daß eine näherungsweise vollständige Situationsbeschreibung im Mundraum nur mit einer hohen Zahl von Einzelproben gewonnen werden kann. Zur Probennahme werden häufig Papierspitzen verwendet, die in Zahnfleischtaschen oder Wurzelkanäle eingeführt werden (US-A-5 725 373, EP-A-

50

65

0 304 871).

Es ist bekannt, daß die Parodontitisaktivität von Zahnfleischtasche zu Zahnfleischtasche in einem Patienten sehr unterschiedlich sein kann, obwohl sich die Parodontitisreger ubiquitär in den Zahnfleischtaschen befinden. Für eine Befunderhebung müssen deshalb weit mehr als 25 Einzelproben genommen und untersucht werden, ohne sicherstellen zu können, daß nicht der eine oder andere Parodontitisherd unberücksichtigt bleibt.

Hieraus wird prinzipiell einsichtig, daß punktuelle Be-
standsauflnahmen nur unbefriedigende Situationsbeschrei-
bungen des Mundraumes zulassen. Der hohe Zeit- und Ko-
stenaufwand der Single-Site-Techniken ist damit nur be-
dingt zu rechtfertigen. Single-Site-Techniken haben sich da-
her in der Diagnostik des Mundraumes nicht in der breiten
Anwendung durchgesetzt.

Es besteht daher seit langem ein dringendes Bedürfnis,
ein einfaches und kostengünstiges Verfahren zur gleichzeiti-
gen multiplen sowie orts- und stoffspezifischen intraoralen
Befunderhebung im Mundraum zur Verfügung zu haben.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung
von Mitteln und Methoden zum intraoral orts- und stoffspezi-
fischen sowie gleichzeitig multiplen Nachweis pathogener
Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intra-
oral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substan-
zen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hin-
weisen.

Im Laufe der Beschreibung der Erfindung sind unter den
nachzuweisenden pathogenen Substanzen und/oder Mi-
kroorganismen oder Substanzen, die auf Munderkrankun-
gen oder Heilungsprozessen hinweisen, beispielsweise
nachfolgend aufgeführte zu verstehen:

1. Stoffwechselprodukte von Bakterien, Viren oder
Pilzen, beispielsweise Antigene, Lipide, Proteine, Pepti-
de, Polysaccharide, DNA, RNA, Zucker, Aminosäuren,
Carbonsäuren, beispielsweise Milchsäure und Pro-
pionsäure, sowie andere niedermolekulare, anionische,
kationische oder neutrale Substanzen sowie deren
Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen,
polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder ad-
häsvien Wechselwirkungen ergeben.

2. Oberflächenstrukturen von Bakterien, Viren oder
Pilzen, bestehend beispielsweise aus Antigenen, Lipi-
den, Proteinen, Peptiden, Polysacchariden, DNA,
RNA, Zuckern, Aminosäuren oder anderen niedermo-
lekularen, anionischen, kationischen oder neutralen
Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich bei-
spieleweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydro-
phoben, kovalenten oder adhäsvien Wechselwirkungen
ergeben.

3. Humane bzw. tierische Substanzen, die als Antwort
auf Infektionen durch Bakterien, Viren oder Pilze ge-
bildet werden, bestehend beispielsweise aus Antikör-
pern, Antigenen, Lipiden, Proteinen, Peptiden, Poly-
sacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Aminosäuren oder
anderen niedermolekularen, anionischen, kationischen
oder neutralen Substanzen sowie deren Kombinatio-
nen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, un-
polaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsvien
Wechselwirkungen ergeben.

4. Humane bzw. tierische Substanzen, die auf Munder-
krankungen hinweisen, die nicht a priori auf eine Infek-
tion durch Bakterien, Viren oder Pilze beruhen (bei-
spieleweise Krebserkrankungen), bestehend beispiels-
weise aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen,
Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern,
Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anioni-

schen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie
deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen,
polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsvien
Wechselwirkungen ergeben.

5. Substanzen, die sich in Strukturen befinden, die als
die Folge von oder die Voraussetzung für die Entste-
hung von Munderkrankungen, beispielsweise Plaque
oder Biofilm, bekannt sind, bestehend beispielsweise
aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen, Pepti-
den, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Amino-
säuren oder anderen niedermolekularen, anionischen,
kationischen oder neutralen Substanzen sowie deren
Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen,
polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder ad-
häsvien Wechselwirkungen ergeben.

6. Substanzen die auf laufende Heilungsprozesse hin-
weisen, die als die Folge von Munderkrankungen oder
Verletzungen, beispielsweise Gewebe und/oder Kno-
chenregeneration, bekannt sind, bestehend beispiels-
weise aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen,
Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern,
Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anioni-
schen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie
deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen,
polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder ad-
häsvien Wechselwirkungen ergeben.

Die vorstehend aufgeführten Substanzen stehen exempla-
risch für solche Substanzen, die alleine oder in Kombination
für diagnostische Zwecke intraoraler Erkrankungen genutzt
werden können und werden nachfolgend auch als Marker-
Verbindungen bezeichnet.

Erfindungsgemäß wird die beschriebene Aufgabe gelöst
durch verformbare, härbare oder filmbildende Trägermate-
rialien, welche dadurch gekennzeichnet sind, daß sie dia-
gnostisch nutzbare Zusatzstoffe für die orts- und stoffspezi-
fische intrarale Diagnose enthalten, sowie durch Verfahren
zur Herstellung von Abbildungen für intrarale orts- und
stoffspezifische Diagnosezwecke, welche dadurch gekenn-
zeichnet sind, daß diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf
verformbare, härbare oder filmbildende Trägermaterialien,
die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in
einer solchen Menge aufgetragen werden, daß ein diagnosti-
sches Signal wahrgenommen werden kann, und durch Ver-
fahren für die gleichzeitige multiple sowie orts- und stoff-
spezifische intrarale Befunderhebung, umfassend die
Schritte: Abdrucknahme mit verformbarem, härbarem oder
filmbildendem Trägermaterial, das diagnostisch wirksame
Zusatzstoffe enthält, und gegebenenfalls Auftragen weiterer
diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe, oder Abdrucknahme
mit verformbarem, härbarem oder filmbildendem Träger-
material, das keine diagnostisch wirksamen Zusatzstoffe
enthält, und Auftragen diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe.

Die diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe erlauben dem
Fachmann die Durchführung diagnostischer Testverfahren,
die zum intraoralen orts- und stoffspezifischen Nachweis
pathogener Substanzen und/oder von Mikroorganismen
oder die zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis
von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungs-
prozesse hinweisen, geeignet sind.

Überraschend ist, daß trotz der ablaufenden dynamischen
Prozesse in der Mundhöhle, die einem ständigen Flüssig-
keitsaustausch durch die Sekrete der Speicheldrüsen und der
Sulkusflüssigkeit unterliegt, ausreichend hohe Konzentra-
tionen von Marker-Verbindungen auf den Oberflächen der
erfindungsgemäßen Trägermaterialien oder in den Träger-
materialien erhalten werden, die es gestatten, eine sichere
Diagnose auch im Rahmen von Routinebehandlungen zu

realisieren.

Vorteilhaft ist es, daß durch die Verwendung der erfundungsgemäßen Trägermaterialien oder durch den Einsatz des erfundungsgemäßen Verfahrens eine nahezu komplette Situationsbeschreibung des Mundraumes, unter Verzicht einer großen Anzahl von Einzelproben, sowie eine Archivierung des momentanen Krankheitsbildes möglich ist. Hierbei ist besonders die Verwendung von additionsvernetzenden Silikonabformmaterialien von Interesse, da die Abdrücke praktisch unbegrenzt haltbar sind.

Vorteilhaft ist es außerdem, daß durch die Verwendung der erfundungsgemäßen Trägermaterialien und die Anwendung des erfundungsgemäßen Verfahrens eine nahezu komplette Situationsbeschreibung der einzelnen Zähne, unter Verzicht einer großen Anzahl von Einzelproben, sowie eine Archivierung des momentanen Krankheitsbildes möglich ist. Neben okklusalen Kauflächen und vestibulären, lingualen, koronalen, apikalen, zervikalen, gingivalen, inzistalen Bereichen eines Zahnes werden durch die Zeichnungsschärfen der Trägermaterialien auch die interproximalen Bereiche zwischen den Zähnen erfaßt.

Vorteilhaft ist es auch, daß durch die Anwendung der erfundungsgemäßen Trägermaterialien oder des erfundungsgemäßen Verfahrens das zeitaufwendige Kultivieren pathogener Mikroorganismen entfällt und somit auch das mit der Vermehrung pathogener Keime verbundene Risiko minimiert wird. Ein besonders großer Vorteil der erfundungsgemäßen Methode besteht gerade darin, daß die Nachweise auch dann gelingen, wenn die Konzentrationen der nachzuweisenden Substanzen im Abbildungsmaterial sehr gering sind.

Mit den erfundungsgemäßen Trägermaterialien gelingt auch der direkte orts- und stoffspezifische Nachweis von Mikroorganismen auf den Zähnen, ohne die auf den Trägermaterial haftenden Mikroorganismen kultivieren zu müssen. Somit entfällt beispielsweise auch der Zusatz von Nährstoffen zum Trägermaterial, wie dies in der US-A-4 976 951 beschrieben ist.

Ebenso vorteilhaft ist die Einfachheit der beschriebenen Verfahren, die bei vielen Erkrankungen eine problemlose Früherkennung mit geringem Aufwand und ohne wesentliche Mehrkosten für den Behandler und den Patienten gestattet.

Als Trägermaterial kommen allgemein beispielsweise dentale Abformmassen oder Filme auf Silikon-, Polyether-Silikon-, Polyether-, Alginat- oder Hydrokolloidbasis in Frage. Ebenso geeignet als Trägermaterial sind alle anderen bekannten Kunststoffe, beispielsweise Polyethylen, Polypropylene, Poly(meth)acrylate, Polyurethane, Polycarbonate, Polysulfid, Polyvinylchloride oder Kautschuk. Darüber hinaus sind Hydrogele, beispielsweise auf Polyvinylpyrrolidon- oder Polyvinylalkoholbasis, als Trägermaterial geeignet. Gleichfalls geeignet für die Durchführung der erfundungsgemäßen Verfahren sind dentale Gipszubereitungen und ähnliche Massen.

Die Basis vieler Abdruckmassen bilden additionsvernetzende oder kondensationsvernetzende Silikone, Polyether-Silikone oder Polyether. Diese Materialien sind im Stand der Technik ausführlich beschrieben worden, so daß es sich erübrigert, hier näher darauf einzugehen. Additions- oder kondensationsvernetzende Silikone sind beispielsweise in der US-A-3 897 376, in der EP-B-0 231 420 sowie in der dort auf Seite 3 erwähnten US-A-4 035 453, weiterhin in der EP-A-0 480 238 (siehe insbesondere Seite 2, Zeilen 3-26) und in der EP-B-0 268 347 beschrieben. Die Offenbarung dieser Schriften soll hier durch Inbezugnahme mitumfaßt sein. Polyether-Silikone sind unter anderem beispielsweise in der DE-A-37 41 575 sowie in der DE-A-38 38 587 beschrieben,

deren Offenbarung hier ebenfalls mitumfaßt sein soll. Polyether schließlich sind beispielsweise in der DE-B-17 45 810 sowie in der DE-A-43 06 997 beschrieben, deren Offenbarung hier gleichfalls mitumfaßt sein soll.

- 5 Ein weiteres mögliches Trägermaterial kann auch eine polymerisierbare Flüssigkeit oder eine Lösung einer polymeren Substanz sein, die auf die zu untersuchenden Stellen aufgesprührt oder aufgetragen, beispielsweise aufgepinselt wird. Typischerweise handelt es sich hierbei um Lacke auf
- 10 Nitrocellulosebasis mit einem flüchtigen Lösungsmittel sowie gegebenenfalls weiteren Hilfsstoffen, die zu einer festen Schicht aushärten, die nach Freisetzung des Wirkstoffes vom Substrat abgezogen werden kann. Verwendbar sind allgemein alle Polymeren, die in geeigneten leicht flüchtigen Lösungsmitteln aufgenommen werden können. Bekannt ist beispielsweise auch die Verwendung von Polyurethanen in Aceton. Geeignete filmbildende Systeme sind aus der Farben- und Lackchemie hinreichend bekannt (Standardwerk der F+L-Industrie).
- 15 20 Das erfundungsgemäße Trägermaterial kann zunächst die zu untersuchende Markerverbindung intraoral ortsspezifisch aufnehmen. Die Markerverbindung wird in einer anschließenden Prozedur auf bzw. im Trägermaterial orts- und stoffspezifisch nachgewiesen, quantifiziert bzw. diagnostisch evaluiert, wobei die Markerverbindung auch erst als Folge einer katalytischen, chemischen, biochemischen Reaktion gebildet werden kann. Die zu analysierende Markerverbindung kann beispielsweise über ionische, polare, unpolare oder hydrophobe Wechselwirkungen auf bzw. im Trägermaterial örtlich fixiert werden. Die Ausbildung von Mikrostrukturen und/oder Mikroräumen in den Trägermaterialien kann die Aufnahme und Fixierung der zu untersuchenden Marker-Verbindungen unterstützen.
- 25 30 Das Trägermaterial enthält in einer bevorzugten Ausführungsform mindestens eine Komponente oder aber zur Vereinfachung der diagnostischen Prozedur alle benötigten Komponenten des diagnostischen Testsystems. Diese diagnostischen Zusätze können beispielsweise über ionische, polare, unpolare oder hydrophobe Wechselwirkungen auf bzw. im Trägermaterial örtlich fixiert werden. Eine örtliche Fixierung von diagnostischen Zusätzen ist auch dadurch möglich, daß die diagnostischen Zusätze zuerst an hochmolekulare Träger fixiert und anschließend in die Trägermasse eingeknetet werden. Hierdurch wird die Diffusionsbewegung der diagnostischen Zusätze im Trägermaterial kontrolliert. Die Ausbildung von Mikrostrukturen und/oder Mikroräumen in den Trägermaterialien kann die Aufnahme und Fixierung der Komponenten unterstützen. Die Komponenten können in den erfundungsgemäßen Trägermaterialien frei verfügbar oder in einer anderen Phase vorliegen.
- 35 40 45 50

Die erfundungsgemäßen Trägermaterialien enthalten 0,0001 bis 10 Gew.-%, bevorzugt 0,01 bis 1 Gew.-% diagnostische Zusätze, jedoch mindestens soviel Zusätze, daß die gewünschte Wirkung wahrgenommen werden kann. Bei der Anwendung des erfundungsgemäßen Verfahrens müssen diagnostische Zusätze in einer solchen Menge auf Trägermaterialien aufgebracht werden, daß die gewünschte Wirkung wahrgenommen werden kann.

Erwünschte Wirkungen können alle wahrnehmbaren Signale sein. Hierunter mit eingeschlossen sind beispielsweise Farbsignale, beispielsweise fluoreszierende, UV-, VIS-, phosphoreszierende oder lumineszierende Signale, die gegebenenfalls mit speziellen Geräten detektiert werden müssen. Ebenso können Signale durch Anwendung der erfundungsgemäßen Verfahren erzeugt werden, die durch Thermographie, Spektroskopie, Chromatographie oder auch durch Analyse der Topographieänderung der Trägermaterialien wahrgenommen werden können.

Als diagnostische Zusätze sind beispielsweise Farbstoff-indikatoren, Antikörper, Enzyme und alle anderen Substanzen geeignet, die dem mit der Entwicklung von diagnostischen Testsystemen vertrauten Fachmann geläufig sind.

In einer speziellen Ausführungsform der Erfindung können die diagnostischen Zusätze in mikroverkapselter Form vorliegen. In einer Mikrokapsel kann eine Vielzahl von Molekülen diagnostischer Zusatzstoffe eingeschlossen sein. Von besonderem Vorteil ist bei der Verwendung von mikroverkapselten diagnostischen Substanzen der auftretende Potenzierungseffekt.

Zur Mikroverkapselung von Wirkstoffen sind verschiedene Verfahren bekannt. Dazu gehört die Grenzflächen-Polykondensation, die an den Grenzflächen einer Dispersion aus zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten stattfindet. Die Reaktionspartner dieser Polykondensation sind dabei in verschiedenen Phasen enthalten. Durch die Ausbildung der Kapselwand an der Grenzfläche der dispergierten Tröpfchen werden diese im Inneren der Kapsel eingeschlossen. In der WO-91/12 884 werden beispielsweise eine wässrige Phase enthaltende Mikrokapseln und deren Herstellung beschrieben. Die prinzipielle Herstellung von Mikrokapseln über Grenzflächen-Polykondensation ist auch in DE-A-39 18 146 und DE-C-39 18 141 beschrieben.

Als diagnostische Zusatzstoffe, die in den Mikrokapseln eingeschlossen werden, eignen sich beispielsweise Farbstoffe oder Komponenten von Farbstoffen, die erst durch Reaktion mit mindestens einer Komponente, die nicht in denselben Mikrokapseln eingeschlossen ist, oder die aber bereits im Trägermaterial vorliegt, nachträglich auf das Trägermaterial aufgebracht wird.

Ganz allgemein können bei der Verwendung mehrkomponentiger Wirkstoffsysteme die einzelnen Komponenten getrennt voneinander, jedoch jeweils eingeschlossen in Mikrokapseln, oder auch teilweise mikroverkapselt und teilweise frei vorliegen. Selbstverständlich ist es auch möglich, bei mehr als zweikomponentigen Wirkstoffsystemen, mindestens zwei Komponenten jeweils mikroverkapselt und mindestens eine andere Komponente frei im Trägermaterial vorräufig zu halten. Essentiell ist jeweils nur, daß eine Reaktion der Wirkstoffkomponenten zum gewünschten Endprodukt durch das getrennte Vorhalten der einzelnen Komponenten solange unterbunden wird, bis ein Reaktionspartner durch eine Zerstörung der Mikrokapselwand freigesetzt wird.

Da Abformmaterialien üblicherweise zweikomponentig angeboten werden, kann es vorteilhaft sein, verschiedene Komponenten der Wirkstoffe in verschiedenen Komponenten der Abformmassen, namentlich der Basis- und der Katalysatorpaste, mikroverkapselt oder frei vorzuhalten.

Bei der Auswahl von geeigneten Trägermaterialien ist allgemein darauf zu achten, daß diese mit den diagnostischen Substanzen kompatibel sind.

Beispielsweise sollten die Trägermaterialien bei der Verwendung säurelabiler Mikrokapseln keine Pufferkapazität aufweisen, die ausreichen würde, den geringen pH-Differenz, der durch die bakteriellen Stoffwechselprodukte hervorgerufen wird, abzupuffern. Bei der Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen beispielsweise sollten die Trägermaterialien selbstverständlich keine Bestandteile enthalten, die im relevanten Wellenlängenbereich selbst fluoreszieren. Die Forderung nach inerten Trägermaterialien im Sinne der diagnostischen Zielsetzung ist für den Fachmann trivial und kann vom Fachmann problemlos beachtet werden.

Die Erfindung wird nachfolgend durch Beispiele näher erläutert, ohne daß sie durch diese beschränkt werden soll.

Herstellungsbeispiel 1

Abformmasse auf Basis eines additionsvernetzenden Silikons mit diagnostischen Zusatzstoffen zur Bestimmung der Proteaseaktivität

- 10 28,2 Teile eines Vinyl-endgestoppten Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 2000 mPa · s bei 23°C, 2,5 Teile eines SiH-Gruppen-haltigen Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 60 mPa · s bei 23°C, 9,7 Teile eines Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 50 mPa · s bei 23°C, 8,1 Teile einer silanisierten pyrogenen Kieselsäure, 49,4 Teile Quarzfeinstmehl sowie als diagnostische Zusatzstoffe 2,0 Teile Gly-Gly und 0,3 Teile Benzoylargininsulfamylamid werden in einem Kneter durch Mischen zu einer homogenen Basispaste vereinigt.

- 15 Die Katalysatorpaste wird durch Vermischen von 21,6 Teilen eines Vinylendgestoppten Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 2000 mPa · s bei 23°C, 8,5 Teilen einer silanisierten pyrogenen Kieselsäure, 53,1 Teilen Quarzfeinstmehl, 13,6 Teilen eines Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 50 mPa · s bei 23°C und 3,4 Teilen einer Lösung von 1,3 Teilen eines Komplexes aus Platin und Divinyltetramethyldisiloxan in einem Polydimethylsiloxan mit einer Viskosität von 50 mPa · s bei 23°C hergestellt.

Herstellungsbeispiel 2

Trägermaterial zur ortsspezifischen Aufnahme von Marker-Substanzen ohne diagnostische Zusatzstoffe

- 20 Dieses auf Polyethersilikon basierende Trägermaterial wurde gemäß Herstellungsbeispiel 1 der Patentschrift DE-A-38 38 587 hergestellt.

Anwendungsbeispiel 1

Diagnose

- 25 40 Zur Simulation der Abdrucknahme eines stark bakterienbefallenen Gebisses werden auf die ausgehärtete Abformmasse nach Herstellungsbeispiel 1 50 µl einer 1,05 µmolaren Lösung der aus der Kulturlösung von *Porphyromonas gingivalis* isolierten Proteasen Gingipain R und/oder Gingipain K gegeben. Nach einer Einwirkzeit von 15 min bei 36°C wird auf die Oberfläche des Trägermaterials eine Lösung von 1 g p-NaO₃S-C₆H₄-N₂⁺BF₄⁻, 3 g Natriumacetat und 3 g Eisessig in 100 ml Wasser gesprüht.

- 45 45 An den Stellen, die mit der Gingipain R Lösung kontaktiert wurden, bildet sich eine intensiv gelbe Färbung.

Anwendungsbeispiel 2

Bestimmung der pH-Änderung

- 55 Ein nicht-verunreinigter Prüfkörper des Trägermaterials gemäß Herstellungsbeispiel 2 wird mit einer 5%-igen Milchsäurelösung zur Simulation einer mit bakteriellen Stoffwechselprodukten versetzten Oralumgebung dotiert.
- 60 60 Nach einer Einwirkzeit von 1 bis 5 min wird der Prüfkörper mit einer pH-Indikatorlösung (Oregon green®, Molecular Probes) besprührt. Der Prüfkörper wird mit einer geeigneten Lampe bei 480 nm bestrahlt und die Fluoreszenzemission bei 500 nm beobachtet. Es gilt, je alkalischer die Umgebung, umso geringer ist die Fluoreszenzemission des pH-Indikators. Die Punkte mit Säuredotierung geben sich auf dem Prüfkörper durch eine geringere Fluoreszenzemission zu erkennen. Zur Befunderhebung kann ein Bilddokumentations-

system eingesetzt werden.

Anwendungsbeispiel 3

Bestimmung von Milchsäure

Bei der Herstellung des Prüfkörpers des Trägermaterials gemäß Herstellungsbeispiel 2 wird Lactatdehydrogenase als Bestandteil eines diagnostischen Systems dem Trägermaterial bis zu einer Konzentration von 100 Units/cm³ beige-mischt. Der Prüfkörper wird mit einer Lösung, bestehend aus 100 mg Calciumlactatpentahydrat, 10 mg NAD, 5 mg 3-(4,5-Dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT), 5 mg Phenazinmethosulfat (PMS) in 20 ml 50 mM Tris/HCl pH 8,0, dotiert. Die Punkte mit Milchsäuredotierung geben sich auf dem Prüfkörper durch eine intensive Blaufärbung zu erkennen. Alternativ kann auf Redoxindikatoren verzichtet werden, wenn die Bildung von NADH durch die Fluoreszenzzunahme bei 460 nm Emission (Anre-gung bei 339 nm) beobachtet wird.

Anwendungsbeispiel 4

Bestimmung von Calcium

Ein Prüfkörper des Trägermaterials gemäß Herstellungs-beispiel 2 wird zur Simulation bakterieller Abbauprodukte der Zahnsubstanz mit einer 1%-igen Calciumdichloridlösung dotiert. Nach einer Einwirkzeit von 1 bis 5 min wird der Prüfkörper mit einer Ca-Indikatorlösung (Oregon Green® 488 BABTA-2, Molecular Probes) besprührt. Der Prüfkörper wird mit einer geeigneten Lampe bestrahlt und die Fluoreszenzemission bei 520 nm beobachtet. Es gilt, je höher die Calciumkonzentration, umso höher die Fluores-zenzemission des Calciumindikators. Die Punkte mit Säure-dotierung geben sich auf dem Prüfkörper durch eine höhere Fluoreszenzemission zu erkennen. Zur Befunderhebung kann ein Bilddokumentationssystem eingesetzt werden.

Anwendungsbeispiel 5

Immunologischer Nachweis von Matrix Metalloproteinase 9

In ein Trägermaterial gemäß Herstellungsbeispiel 2 wer-den kommerziell erhältliche monoklonale Antikörper gegen Matrix Metalloproteinase 9 (MMP 9) als Komponente eines diagnostischen Systems bis zu einer Konzentration von 100 µg/cm³ eingebracht. Der Prüfkörper wird mit einer Lö-sung von MMP 9 dotiert. Nach einer Einwirkzeit von 15 Mi-nuten wird der Prüfkörper mit einer 1%-igen Bovine-Serum-Albumin-Lösung (BSA-Lösung) gewaschen. Anschließend wird der Prüfkörper mit einer Lösung Peroxidase-gekoppel-ter polyklonaler Antikörper besprührt, die sich gegen andere Epitope von MMP 9 richten, welche nicht vom ersten mono-klonalen Antikörper belegt sind.

Die Gewinnung von polyklonalen Antikörpern folgt den klassischen Standardprozeduren, wie sie in Hamada, S.; Slade, H. D. Microbiological Reviews (1980) 44, 331–384 und in der dort zitierten Literatur beschrieben wurden.

Der Prüfkörper wird wiederum mit 1%-iger BSA-Lösung gewaschen. Abschließend wird der Prüfkörper mit einer Standardreagentienlösung (z. B. SIGMA FAST™ OPD) mit o-Phenyldiamindichlorid und H₂O₂ als Substrate besprührt und die gelborange Farbentwicklung beobachtet. Die Far-bentwicklung tritt nur an den Stellen auf, die mit MMP 9 do-tiert worden sind.

Anwendungsbeispiel 6

Immunologischer Nachweis von Mikroorganismen

- 5 In ein Trägermaterial gemäß Herstellungsbeispiel 2 werden als Komponenten eines diagnostischen Systems kom-merziell erhältliche Lektine (beispielsweise Concanavalin A) eingebracht, die über ihre spezifische Affinität zu Glyko-proteinen Mikroorganismen zu binden vermögen (Hamada, S.; Slade, H. D. Microbiological Reviews (1980) 44, 331–384). Die Prüfkörper werden zur Simulation einer bak-teriell belasteten Oralumgebung mit definierten Lösungen von Streptococcus mutans dotiert, so daß pro Dotierung eine bekannte Anzahl von Streptococcus mutans vorliegt. Nach 10 einer Einwirkzeit von 15 Minuten wird der Prüfkörper mit einer 1%-igen BSA-Lösung gewaschen. Anschließend wird der Prüfkörper mit Peroxidase-gekoppelten polyclonalen Antikörpern besprührt, die sich gegen Streptococcus mutans-Oberflächenantigene richten.
- 15 20 In bekannten Standardprozeduren können derartige Anti-körper im Kaninchen erzeugt werden.
- Der Prüfkörper wird wiederum mit 1%-iger BSA-Lösung gewaschen. Abschließend wird der Prüfkörper mit einer Standardreagentienlösung (z. B. SIGMA FAST™ OPD) mit 25 o-Phenyldiamindichlorid und H₂O₂ als Substrate besprührt und die gelborange Farbentwicklung beobachtet. Die Far-bentwicklung tritt nur an den Stellen auf, die mit Streptococ-cus mutans dotiert worden sind.

Patentansprüche

1. Verformbares, härtbares oder filmbildendes Träger-material, dadurch gekennzeichnet, daß es diagno-stisch nutzbare Zusatzstoffe für die orts- und stoffspe-zifische intraorale Diagnose enthält.
2. Trägermaterial nach Anspruch 1, dadurch gekenn-zeichnet, daß es diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe zum intraoralen ortsspezifischen Nachweis von patho-genen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoralen ortsspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungs-prozesse hinweisen, enthält.
3. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die diagnostisch nutzba-ren Zusatzstoffe in mikroverkapselter Form vorliegen.
4. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens soviel dia-gnostische Zusatzstoffe enthalten sind, daß ein diagno-stisches Signal wahrgenommen werden kann.
5. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die diagnostischen Zu-satzstoffe in einer Menge von 0,0001 bis 10 Gew.-%, bevorzugt 0,01 bis 1 Gew.-% enthalten sind.
6. Trägermaterial zur Verwendung nach einem der An-sprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß es aus ei-ner der folgenden Gruppen ausgewählt ist:
 - (i) Abformmassen oder Filme auf Silikon-, Poly-ethersilikon-, Polyether-, Alginat- oder Hydrokoll-oidbasis,
 - (ii) Kunststoffe aus der Gruppe Polyethylene, Po-lypropylene, Poly(meth)acrylate, Polyurethane, Polycarbonate, Polysulfid, Polyvinylchloride oder Kautschuk,
 - (iii) Hydrogele auf Polyvinylpyrrolidon- oder Po-lyvinylalkoholbasis, oder
 - (iv) dentale Gipszubereitungen.
7. Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für in-traorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke, da-

durch gekennzeichnet, daß diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer solchen Menge aufgebracht werden, daß ein diagnostisches Signal wahrgenommen werden kann. 5

8. Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare 10 oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer Menge aufgebracht werden, daß ein diagnostisches Signal in Form des intraoralen orts- und stoffspezifischen Nachweises von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder in Form des intraoralen orts- und stoffspezifischen Nachweises von Substanzen, die auf Mundkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen, wahrgenommen werden kann. 15

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 oder 8, da- 20 durch gekennzeichnet, daß die diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe in mikroverkapselter Form vorliegen.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 9, da- 25 durch gekennzeichnet, daß die diagnostischen Zusatzstoffe in einer Menge von 0,0001 bis 10 Gew.-%, be- vorzugt 0,01 bis 1 Gew.-%, eingesetzt werden.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 10, da- 20 durch gekennzeichnet, daß das Trägermaterial aus ei- ner der folgenden Gruppen ausgewählt wird:

- (i) Abformmassen oder Filme auf Silikon-, Poly- 30
ethersilikon-, Polyether-, Alginat- oder Hydrokolloidbasis,
- (ii) Kunststoffe aus der Gruppe Polyethylene, Po-
lypropylene, Poly(meth)acrylate, Polyurethane,
Polycarbonate, Polysulfid, Polyvinylchloride oder 35
Kautschuk,
- (iii) Hydrogele auf Polyvinylpyrrolidon- oder Po-
lyvinylalkoholbasis, oder
- (iv) dentale Gipszubereitungen.

12. Verfahren für die gleichzeitige multiple sowie 40
orts- und stoffspezifische intraorale Befunderhebung, um-
fassend die Schritte: Abdrucknahme mit verformba-
rem, härtbarem oder filmbildendem Trägermaterial,
das diagnostisch wirksame Zusatzstoffe enthält, und
gegebenenfalls Auftragen weiterer diagnostisch wirk- 45
samer Zusatzstoffe, oder Abdrucknahme mit verform-
barem, härtbarem oder filmbildendem Trägermaterial,
das keine diagnostisch wirksamen Zusatzstoffe enthält,
und Auftragen diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe. 50

50

55

60

65